Wilms8

300416

INFORMAÇÕES GERAIS

Descrição

A linha celular Wilms8 foi derivada de um tumor primário de Wilms de um doente pediátrico com uma mutação WT1 na linha germinal. Esta linha celular é caracterizada por uma mutação homozigótica sem sentido no gene WT1 (c.1168 C>T, p.R390X), levando a uma perda completa da função do WT1. O WT1 é crucial para o desenvolvimento normal dos rins e a sua inativação é uma caraterística comum em certos subtipos agressivos do tumor de Wilms, particularmente naqueles que exibem diferenciação mesenquimal. Assim, o Wilms8 constitui um modelo valioso para estudar os efeitos da perda de WT1 na tumorigénese, especialmente no contexto dos tumores de Wilms que surgem com uma componente estromal pronunciada.
Para além da mutação do WT1, as células Wilms8 apresentam uma mutação no gene CTNNB1 (p.S45A), que codifica a β-Catenina, um regulador-chave da via de sinalização Wnt. A mutação na serina 45 interrompe o processo normal de fosforilação que leva à degradação da β-Catenina, causando a sua estabilização e acumulação no núcleo. Isto resulta na ativação constitutiva da sinalização Wnt, que impulsiona a proliferação celular e contribui para as propriedades oncogénicas da linha celular Wilms8. A interação entre a perda de WT1 e a sinalização Wnt aberrante em Wilms8 torna-a um modelo crucial para a compreensão dos mecanismos moleculares subjacentes a estas vias na biologia do tumor de Wilms.
As células Wilms8 apresentam um fenótipo mesenquimal, caracterizado pela expressão de vimentina e pela ausência de marcadores epiteliais como a citoqueratina. Isto está de acordo com a diferenciação estromal observada no tumor original. As células demonstram uma capacidade limitada de sofrer uma maior diferenciação mesenquimal, como a formação de células semelhantes a músculos em condições específicas. As análises proteómicas do Wilms8 revelaram a ativação de múltiplos receptores tirosina-quinases (RTKs), incluindo o PDGFRβ e o AXL, que estão envolvidos em processos-chave como a sobrevivência, a migração e a proliferação celulares. A ativação de vias de sinalização a jusante, particularmente as vias MAPK e PI3K/AKT, contribui ainda mais para as caraterísticas agressivas das células Wilms8.
De um modo geral, a linha celular Wilms8 constitui uma ferramenta essencial para a investigação da base molecular do tumor de Wilms causado pela perda de WT1 e pela sinalização Wnt aberrante. As suas caraterísticas genéticas e fenotípicas fazem dela uma plataforma robusta para o estudo da interação entre estas vias críticas e para a identificação de potenciais alvos terapêuticos em tumores de Wilms com um componente estromal.

Tecido	Rim
Doença	Tumor de Wilms

Aplicações

Modelo de cultura celular in vitro. Estudos bioquímicos

CLASSIFICAÇÃO

Organismo	Humano
Sexo	Masculino
Propriedades de crescimento	Aderente
Nível de biossegurança	1

CARACTERÍSTICAS

Morfologia	Em forma de fuso
Tipo de célula	Células de Wilms

Cytion GmbH
Nikola-Tesla-Str. 3
69124 Heidelberg
Tel: +49 (0)6221 405780
info@cytion.com
cytion.com

Registered office Heidelberg
VAT ID: DE283292917
Local court Mannheim - HRB 714394
CEO / Geschäftsführer: Jonathan Steubing

Banking information
Sparkasse Heidelberg
IBAN: DE35 6725 0020 0009 2076 86
BIC: SOLADES1HDB

IDENTIFICADORES

Referência

Wilms8 (número de catálogo Cytion 300416)

Número de identificação fiscal do NCBI	9606
Cellosaurus	CVCL_A5SJ

EXPRESSÃO E SUSCETIBILIDADE

Perfil mutacional

Estado da mutação WT1: homozigótico c.1168C>T, p.390x, LOH: , Estado da mutação CTNNB1: heterozigótico TCT>GCT, p.S45A

MANUSEAMENTO E CULTURA

Meio de cultura

Kit MSCGM (da Lonza)

Atmosfera de incubação	37°C, 5%CO2, atmosfera humidificada.
Reagente de dissociação	Accutase

Subcultura

Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.

Descongelamento e cultura

Confirm that the vial remains deeply frozen upon delivery, as cells are shipped on dry ice to maintain optimal temperatures during transit.
Upon receipt, either store the cryovial immediately at temperatures below -150°C to ensure the preservation of cellular integrity, or proceed to step 3 if immediate culturing is required.
For immediate culturing, swiftly thaw the vial by immersing it in a 37°C water bath with clean water and an antimicrobial agent, agitating gently for 40-60 seconds until a small ice clump remains.
Perform all subsequent steps under sterile conditions in a flow hood, disinfecting the cryovial with 70% ethanol before opening.
Carefully open the disinfected vial and transfer the cell suspension into a 15 ml centrifuge tube containing 8 ml of room-temperature culture medium, mixing gently.
Centrifuge the mixture at 300 x g for 3 minutes to separate the cells and carefully discard the supernatant containing residual freezing medium.
Gently resuspend the cell pellet in 10 ml of fresh culture medium. For adherent cells, divide the suspension between two T25 culture flasks; for suspension cultures, transfer all the medium into one T25 flask to promote effective cell interaction and growth.
Adhere to established subculture protocols for continued growth and maintenance of the cell line, ensuring reliable experimental outcomes.

CONTROLO DE QUALIDADE E CRIOPRESERVAÇÃO

Esterilidade

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.
Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.

Meio de congelação	Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores optimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Condições de armazenamento

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Condições de envio

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

DOADOR

Idade do dador	8 meses
Etnia	Caucasiano

ASPECTOS LEGAIS E DE SEGURANÇA

Precauções de segurança

Quando se planeia armazenar um criovial em nitrogénio líquido para descongelação futura, é obrigatório aderir a medidas de segurança rigorosas. Luvas e vestuário de proteção adequados são essenciais, e a utilização de uma máscara facial ou óculos de segurança é necessária durante a transferência de amostras congeladas para ou do tanque de nitrogénio líquido. Isto destina-se a mitigar o risco de ferimentos provocados por potenciais explosões de crioviais após a remoção, que podem resultar na projeção de fragmentos afiados.

Garantia

Na Cytion, nós garantimos a qualidade e a viabilidade de nossos produtos.
Garantimos que nossas células serão viáveis no início da cultura por 60 dias após o envio de nossas instalações.
Asseguramos que todos os materiais estão em conformidade com as especificações descritas no Certificado de Análise e/ou Folha de Produto
Para mais informações, consulte a nossa <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Declaração de Garantia

É necessário um Acordo de Transferência de Material	Yes